

Präzision

Abweichungen und OOS-Ergebnisse in der pharmazeutischen Analytik

Dr. Bernd Renger, Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG

Abweichungen bei der Durchführung von Tests und OOS („Out-of-Specification“)-Ergebnisse bei der analytischen Prüfung von Arzneimitteln sind noch immer der einsame Spitzenreiter unter den Mängelpunkten bei Behördeninspektionen (insbesondere bei solchen der amerikanischen Gesundheitsbehörde FDA) von Qualitätskontrolllabors der pharmazeutischen Industrie. Warum das trotz aller Fortschritte in der pharmazeutischen Analytik noch immer so ist, versucht dieser Artikel zu erklären...

Analytische Validierung

Eigentlich sind die Vorgaben des EURACHEM Guide „The Fitness for Purpose of Analytical Methods“ [1] sowie der entsprechenden pharmazeutischen Guideline der ICH (International Conference on Harmonisation) Q2(R1) „Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology“ [2] eindeutig: Die Validierung eines Prüfverfahrens muss sich am vorgesehenen Zweck und den damit verbundenen Anforderungen an die Leistungsfähigkeit des Verfahrens orientieren.

Für Gehaltsbestimmungen in der pharmazeutischen Qualitätskontrolle bedeutet das, für Wirkstoffe Spezifikationsgrenzen von 98,0 bis 102,0 % (bei Verwendung chromatografischer Methoden) und für Fertigarzneimittel Spezifikationsgrenzen von 95 bis 105 % entsprechend den europäischen Erwartungen mit hinreichender Sicherheit überwachen und belegen zu können. Die sehr engen Grenzen, denen die analytischen Ergebnisse entsprechen müssen, sind nicht zuletzt ein Grund dafür, dass die Validierung entsprechend den Vorgaben der International Conference on Harmonisation so überaus formalistisch der eigentlichen analytischen Entwicklung „aufgefropft“ werden, anstatt die Validierung sinnvollerweise als iterativen Prozess in die Entwicklung einzubauen.





Validierungsparameter

Einig sind sich alle Vorgaben, dass die Validierung eines Verfahrens folgende Parameter umfassen muss:

- Selektivität (ICH: specificity)
- Kalibrierung (ICH: linearity & range)
- Richtigkeit/Wiederfindung (ICH: accuracy)
- Nachweisgrenze/Erfassungsgrenze (ICH: detection limit/quantitation limit)
- Präzision (ICH: repeatability/intermediate precision/reproducibility)
- Robustheit (ICH: robustness)

Je nach Typ des analytischen Verfahrens sind alle oder nur einzelne dieser Parameter zu belegen. Mit einem solchermaßen validierten und nachweislich zur Prüfung der vorgegebenen Spezifikationsparameter geeignetem Prüfverfahren sollten daher Ergebnisse außerhalb der Spezifikationen, so genannte OOS-Ergebnisse die seltene Ausnahme sein und wenn doch, sollte ihr Auftreten auf ein Produktionsproblem, nicht auf ein unzureichendes Analyseverfahren hinweisen.

Die Untersuchung von OOS-Ergebnissen

Die Realität sieht anders aus. Im Bereich der pharmazeutischen Qualitätskontrolle sind ca. 3 % „initiale“ OOS-Ergebnisse die Regel, in einzelnen Bereichen auch mehr [3]. Jedes dieser Ergebnisse ist eine Abweichung, die entsprechend den rigiden Vorgaben der FDA eine streng formal abzuarbeitende Untersuchung der möglichen Gründe nach sich zieht [4] (Abb. 1).

Nur ein Teil davon kann einem klaren Laborfehler oder einer tatsächlich nicht spezifikationskonformen Charge zugeordnet werden. In vielen Fällen handelt es sich um ein so genanntes „inconclusive result“, die Entscheidung über die Produktqualität erfolgt dann nach mehrfacher Wiederholungsmessung. Damit trägt man der Tatsache Rechnung, dass analytische Verfahren eine gewisse Variabilität aufweisen, also sowohl systematische als auch (größere) zufällige Abweichungen aufweisen, die aus rein statistischen Gründen zu OOS-Resultaten führen können oder müssen (Abb. 2).

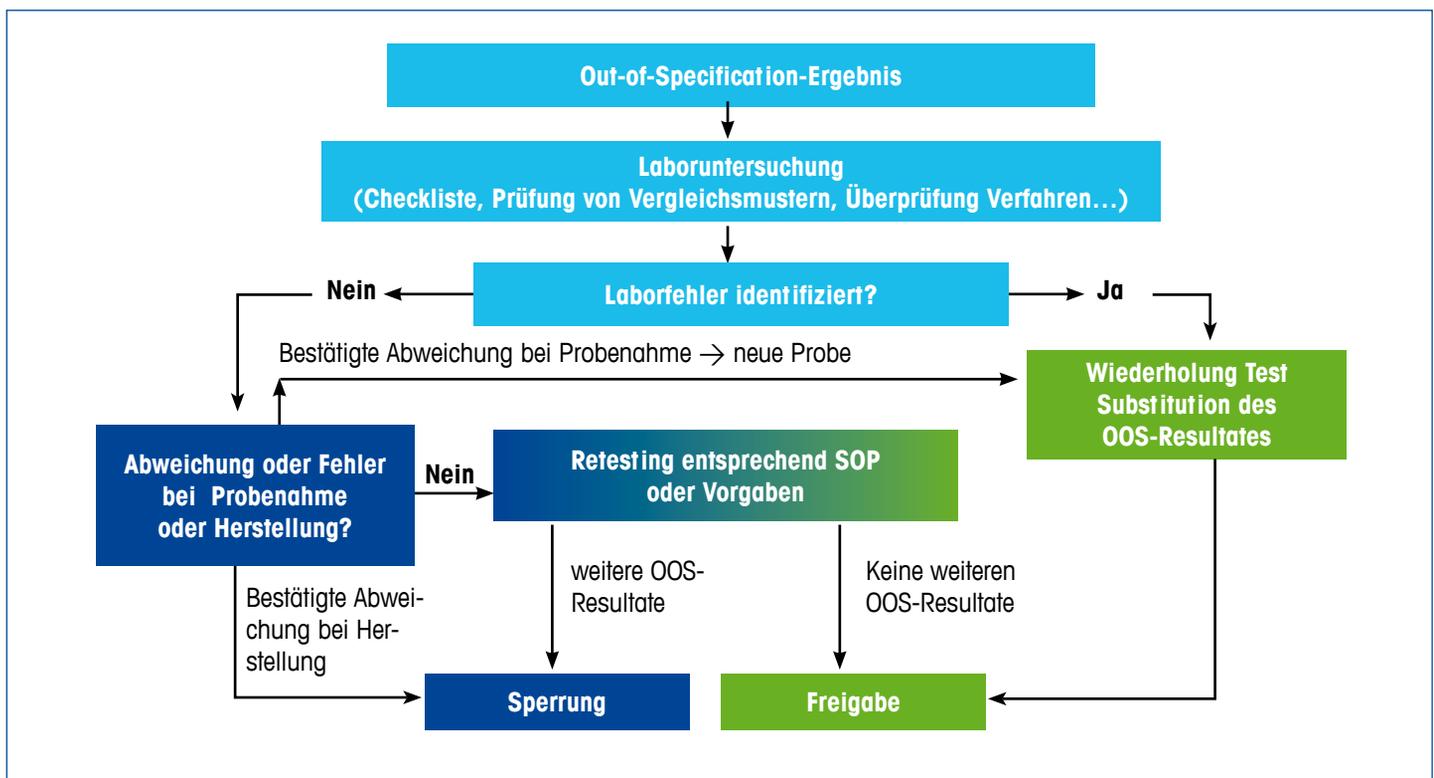


Abb. 1 Möglicher Ablauf einer OOS-Untersuchung entsprechend der FDA OOS Guideline. Retesting erfolgt meist mit n= 6 oder n = 8, wenn möglich, gleiche Probe, alle Ergebnisse (auch erstes OOS) werden bei der Statusentscheidung der Charge berücksichtigt

Die Präzision eines Prüfverfahrens als das Maß aller Dinge?

Für die Bestimmung der Leistungsfähigkeit eines Verfahrens sind alle jeweils zu bestimmenden Validierungsparameter von gleicher Bedeutung. Über die letzten Jahrzehnte ist aber eine erstaunliche und unerfreuliche Tendenz erkennbar geworden: Der Hang der Analytiker nach immer präziseren Prüfverfahren oder um es korrekter zu sagen: Der Hang dazu, immer niedrigere relative Standardabweichungen als Beleg der überragenden Präzision von neuen Prüfverfahren zu berichten. Eingereichte Manuskripte und selbst publizierte Artikel, die einem Peer Review unterzogen worden sind, schwelgen in nur schwer nachvollziehbaren oder gar unglaublichen und unmöglichen Präzisionsdaten.

Mit einer möglichst kleinen relativen Standardabweichung – so der sich darin manifestierende Irrglaube – belegt man nicht nur, dass das vorgeschlagene Verfahren zur Prüfung enger Spezifikationsgrenzen geeignet ist, sondern auch, „wie gut das eigene Labor arbeitet“.

Damit wird einer der Grundpfeiler einer vernünftigen Validierung geschleift – Validierung wird nicht als kurzfristige Momentaufnahme betrachtet, sondern als Beleg für die langfristige über Jahre und Jahrzehnte andauernde Leistungsfähigkeit im Routinebetrieb.

Die Überprüfung von veröffentlichten planar-chromatografischen Verfahren für pharmazeutische Anwendungen aus den Jahren 2008 bis 2009 in acht international renommierten chromatografischen Journalen ergab Erstaunliches und Erschreckendes: Nur in einem Bruchteil der Veröffentlichungen wurden die berichteten Validierungsparameter korrekt ermittelt, die meisten der gravierenden Fehler (oder Täuschungen?) wurden bei der Bestimmung der Präzision gemacht [5].

Der (fromme?) Selbstbetrug

Die Fehler reichen dabei von der totalen „Unterschlagung“ ganzer wichtiger Teilabschnitte der Prüfung wie Probennahme, Probenvorbereitung und Einwaage bis zur offensichtlichen Selektion von besonders „guten“ Präzisionsdaten.

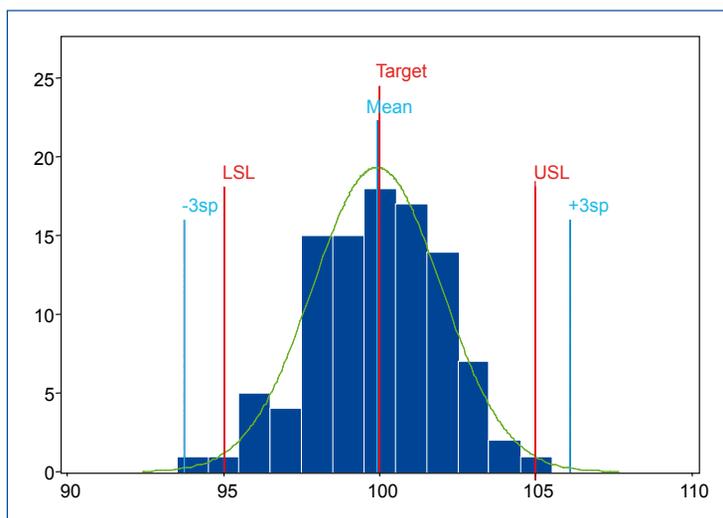


Abb. 2 Simulation eines Analysenverfahrens mit Zielwert 100,0% und einer angenommenen relativen Standardabweichung von 2,0%. Obwohl keine systematische Abweichung, keine Durchführungsfehler und keine Produktionsabweichungen berücksichtigt wurden, liegen 3% der errechneten Werte außerhalb der unteren (LSL) oder oberen (USL) Spezifikationsgrenzen, repräsentieren also „OOS-Ergebnisse“

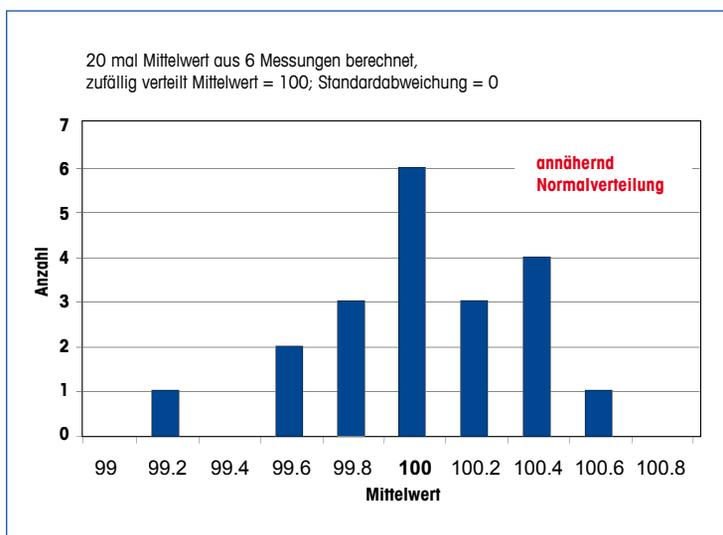


Abb. 3 Simulation von 20 Messreihen mit jeweils 6 Wiederholungen, Zielwert 100, Standardabweichung 1,0. Man sieht, dass die Mittelwerte annähernd normalverteilt eng um den Erwartungswert liegen.



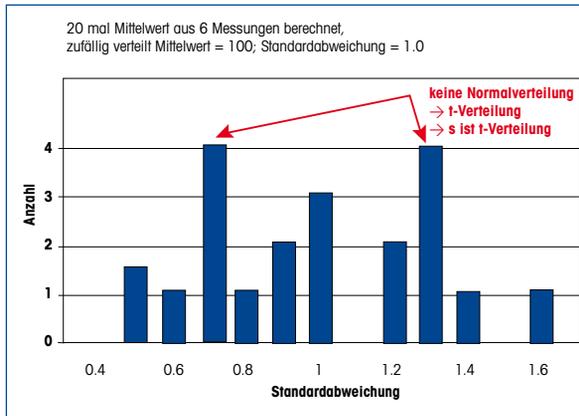


Abb. 4 Die zu Abbildung 3 gehörenden Standardabweichungen. Anders als die Mittelwerte sind diese nicht normalverteilt und zeigen eine weite Schwankung zwischen „sehr guten“ und „unakzeptablen“ Werten.

Im ersten Fall werden die fertig vorbereiteten Probelösungen einfach mehrfach aufgetragen (oder in der HPLC oder GC mehrfach eingespritzt) und die relative Standardabweichung der Replikate wird stolz als Verfahrenspräzision berichtet. Das hat zur Konsequenz, dass die Verfahrensschritte mit der größten Variabilität und der größten Beeinflussbarkeit durch individuelle Unterschiede von Labormitarbeiter zu Labormitarbeiter nicht betrachtet werden und nur die schon heute meist automatisierten und daher weniger streuenden (chromatografischen) Schritte betrachtet werden.

Wie entscheidend diese aber für die wahre Variabilität von Analyseverfahren sind, konnte von uns schon vor einigen Jahren belegt werden [6]. Alleine durch den Ersatz der manuellen Einwaage der Standardsubstanzen für die Requalifizierung von HPLC-Geräten gegen eine automatisierte Einwaage und Probezuführung konnte die relative Standardabweichung der Peakflächen von durchschnittlich > 0,5 % auf unter 0,3 % gesenkt werden.

Weniger leicht durchschaubar sind die durch sechs parallele Prüfungen wirklich gemessenen und trotzdem nicht korrekten Präzisionswerte nach dem Motto „best of“. Es ist ein bekanntes Phänomen, dass Mittelwerte von Serienmessungen annähernd normalverteilt sind, was man durch einfache Simulation mit Excel-Daten leicht zeigen kann (Abb. 3). Die zu diesen Messserien bzw. Simulationen gehörenden Standardabweichungen sind dagegen nicht normalverteilt und unterliegen weiten Schwankungen. Das wird aber nicht immer verstanden und entsprechend berücksichtigt –

Technik	SST RSD [%]	Intermediate Precision RSD [%]	Langzeit-Unsicherheit RSD [%]
HPLC, automat,	0,3–0,5	0,6–0,8	0,9–1,1
HPLC	0,7–1,0	1,1–1,5	1,6–2,2
GC, direkt	~ 1,0	1,5	2,2
GC, Headspace	~ 1,6	2,3	3,5
CE	~ 1,0	1,5	2,2
HPTLC	1,0–2,0	2,1–2,9	3,2–4,3

Abb. 5 Typische Variabilität chromatografischer Verfahren in der pharmazeutischen Qualitätskontrolle (n = 6)

auch nicht in der ICH-Guideline! Als Konsequenz werden oft „schlechte“ Ergebnisse einer ersten echten Testreihe zur Bestimmung der Präzision auf eine fehlerhafte Durchführung oder mangelnde Erfahrung geschoben und die Messung wiederholt, bis – wie zu erwarten – ein „gutes“ Ergebnis die Eignung des Verfahrens belegt, das damit zum Einsatz frei gegeben wird (Abb. 4).

Wie kann man OOS-Ergebnisse vermeiden?

Die Konsequenzen solchen Selbstbetrugs haben letztlich die späteren Anwender dieses Verfahrens im Routinebetrieb zu tragen. Ist aufgrund der geschönten oder missinterpretierten Daten ein für die gestellte Aufgabe ungeeignetes Verfahren in die Zulassung eingeflossen, sehen sie sich mit einer erhöhten Rate von OOS-Ergebnissen konfrontiert. Das bringt nicht nur die Verpflichtung mit sich, in jedem Fall aufwändig die Qualität des Produktes durch Retesting zu belegen, sondern es birgt auch die Gefahr, dass in dem einen oder anderen Fall das Retesting diesen Nachweis nicht erbringt und somit Chargen eigentlich einwandfreier Qualität gefährdet sind. Nicht zu vergessen die Problematik, wiederholte OOS-Ergebnisse in Inspektionen oder Audits präsentieren und erklären zu müssen. Natürlich sind OOS („Out-of-Specification“)-Ergebnisse nicht vollkommen auszuschließen. Aber was möglich ist, ist eine weitgehende Vermeidung von OOS-Resultaten aus rein statistischen Gründen aufgrund der zu großen Variabilität der Prüfverfahren.



Dies kann durch realistische Validierungsexperimente und eine ehrliche Abschätzung der analytischen Unsicherheit eines vorgeschlagenen Verfahrens erreicht werden (Abb. 5) [6,7].

Das wiederum kann dann zur Entscheidung führen, dass ein Verfahren für die Überwachung der entsprechenden Spezifikationslimits ungeeignet ist und ersetzt oder verbessert werden muss – oder aber, dass die gewählten Spezifikationen zu ambitioniert sind und eventuell aufgeweitet werden müssen.

Wird die Entscheidung getroffen, dass die Leistungsfähigkeit eines vorgesehenen Verfahrens verbessert werden muss, sollte dies bevorzugt über eine Verbesserung der kritischen Schritte Probennahme – Probenvorbereitung – Einwaage – Reinigung und Verdünnung erfolgen, welche die größten Beiträge zur Gesamtunsicherheit des Verfahrens beisteuern. Dabei bietet es sich an, die bisher noch stark manuell geprägten Arbeitsschritte der Probenvorbereitung, Einwaage und Standardvorbereitung zu automatisieren. Innovative Systeme stellen dabei entscheidende Fortschritte zur Erreichung dieses Zieles dar.

■ bernd.renger@vetter-pharma.com

Bernd Renger ist Bereichsleiter Qualitätskontrolle bei der Vetter Pharma-Fertigung GmbH, einem global agierenden Lohnhersteller aseptisch vorgefüllter Injektionssysteme für die Pharma- und Biotechindustrie. Nach dem Studium der Chemie in Gießen sowie anschließender Promotion 1976 über ein organisch-synthetisches Thema zur Umpolung der Reaktivität hat er zunächst in verschiedenen Positionen bei der Hoechst AG (Frankfurt), Mundipharma (Limburg), Altana Pharma (Singen) und Baxter BioScience (Wien) gearbeitet. Er ist Qualified Person und als solche Chairman der European QP Association sowie Mitglied des Boards der European Compliance Academy. Schwerpunkt seiner Referententätigkeit sind Qualitätssysteme, Abweichungsmanagement sowie OOS-Abläufe und analytische Variabilität.

Literatur

- [1] EURACHEM „The Fitness for Purpose of Analytical Methods“, English Edition 1.0–1998; ISBN: 0 94892 612 0, <http://www.eurachem.org/guides/pdf/valid.pdf>
- [2] ICH (International Conference on Harmonisation) Guideline Q2(R1) „Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology“, November 2005, <http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf>
- [3] B. Renger, „Umgang mit Out of Specification (OOS)-Resultaten auf Laborebene“, in: „FDA-Anforderungen an die cGMP-Compliance“; Seite 142–59; Dezember 2004, Editio Cantor, ISBN: 3871932728
- [4] FDA Guidance for Industry „Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production“; October 2006; <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070287.pdf>
- [5] K. Ferenczi-Fodor, B. Renger, Z. Végh, Journal of Planar Chromatography 23 (2010) 3, 173–179
- [6] B. Renger, Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications; 745, 1, (2000), 167–176
- [7] Joint Committee for Guides in Metrology „Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement“ (GUM), September 2008, <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>